

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平3-120469

⑬ Int.Cl.<sup>3</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成3年(1991)5月22日

G 01 N 33/543  
30/82  
33/543

J 7906-2G  
7621-2G  
Q 7906-2G

審査請求 未請求 請求項の数 12 (全15頁)

⑮ 発明の名称 クロマトグラフアッセイ用多孔質膜装置およびその製法

⑯ 特 願 平2-260291

⑰ 出 願 平2(1990)9月26日

優先権主張 ⑱ 1989年9月27日 ⑲ 米国(U S) ⑳ 413571

⑳ 発 明 者 ドナルド・アービン・ アメリカ合衆国イリノイ 60031、ガーニー、バイン・グ  
ステインブソン ローブ 573番  
㉑ 発 明 者 ドロシー・ザクラ アメリカ合衆国イリノイ 60030、グレイスレイク、ボニ  
ー・ブラエ 285番  
㉒ 出 願 人 アボット・ラボラトリ アメリカ合衆国イリノイ 60064-3500、アボット・パー  
ーズ ク、ワン・アボット・パーク・ロード(番地の表示なし)  
㉓ 代 理 人 弁理士 青山 蓑 外1名

#### 明 細 書

##### 1. 発明の名称

クロマトグラフアッセイ用多孔質膜装置およびその製法

##### 2. 特許請求の範囲

(1) アニオン性界面活性剤を約0.05%~約8%(v/v)の最終濃度で含む湿潤性の多孔質膜を有機溶媒ベースの接着剤を用いて該膜の少なくとも1つの側面にて支持体にラミネートし、生物学的に活性な試薬と接触させてその試薬の活性を保持させていることを特徴とする、診断アッセイに有用な固相装置。

(2) 多孔質膜がニトロセルロースからなり、界面活性剤の最終濃度が約0.1%~約3.5%(v/v)である請求項(1)に記載の装置。

(3) 多孔質膜がポリビニリデンジフルオライドからなり、界面活性剤の最終濃度が約2.0%~約5.0%(v/v)である請求項(1)に記載の装置。

(4) 界面活性剤が硫酸アルキルまたはスルホン酸アルキル(アルキル鎖の炭素数は1~約18)か

らなる請求項(1)に記載の装置。

(5) 界面活性剤が1-ペンタンスルホン酸、1-ヘプタンスルホン酸、1-オクタンスルホン酸、1-デカンスルホン酸、1-ドデカンスルホン酸およびドデシル硫酸塩よりなる群から選ばれたものである請求項(4)に記載の装置。

(6) 分析対象物の存在または量を決定するための診断アッセイに有用な、ラミネートした湿潤性固相支持体の製造方法であって、

(a) 界面活性剤を約0.05%~約8%(v/v)の最終濃度にて含ませた多孔質膜を、有機溶媒ベースの接着剤を用いて支持体にラミネートし、ついで

(b) 該膜中でその活性が保持されるように、該多孔質膜の特定部分に生物学的に活性な試薬を接触させる

ことを特徴とする方法。

(7) 界面活性剤が硫酸アルキルまたはスルホン酸アルキル(アルキル鎖の炭素数は1~約12)からなる請求項(6)に記載の方法。

(8)界面活性剤が水ビヒクル溶液から膜中に含ませられる請求項(6)に記載の方法。

(9)該多孔質膜のもう一方の側をラミネートする工程をさらに含む、請求項(6)に記載の方法。

(10)湿潤性多孔質膜固相を用いて試料中の特異的結合リガンドの存在または量を決定する方法であって、

(a)約0.05%~約8%(v/v)の最終濃度にてアニオン性界面活性剤を含ませ、有機溶媒ベースの接着剤を用いて支持体にラミネートした多孔質膜の特定部分に、該リガンドと結合し得るリガンドレセプターを固定化し、

(b)工程(a)の膜の該特定部分を試料と接触させてリガンド/リガンドレセプター複合体を該膜上に生成させ、ついで

(c)該複合体の存在または量を検出して分析対象物を測定することを特徴とする方法。

(11)工程(b)の接触を、該膜を試料中に浸漬することにより行う請求項(10)に記載の方法。

機械的強度が弱いことである。クロマトグラフィー膜に付随する他の問題は、クロマトグラフィー中に流体が蒸発してしまうことである。機械的強度を大きくし蒸発を最小にするために、ミラル(Mylar)などの支持体物質にニトロセルロース膜をラミネートしている。しかしながら、そのようなラミネートに用いる接着剤は、しばしばニトロセルロースの親水性の性質に悪影響を与え、時間の経過とともに不安定にする。ニトロセルロース膜のラミネートに用いる幾つかの接着剤では、該膜の孔中での毛管流速の減少によって測定されるように、親水性の低下を引き起こすことがわかっている。

多孔質膜を支持体にラミネートすることにより膜の親水性がなぜ失われるのか確かなことはわかっていないが、接着剤から多孔質膜中へ成分が拡散もしくは移動することにより親水性が失われるものと思われる。その機構がどのようなものであれ、親水性が時間とともに失われることは事実であり、本明細書でも第4図および実施例1に

(12)工程(b)の接触を、該膜の一端を試料と接触させ、毛管作用により試料を該膜中を該特定部分まで移動させることにより行う請求項(10)に記載の方法。

### 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、イムノクロマトグラフィーアッセイ装置に有用な多孔質膜に関する。さらに詳しくは、疎水性を回避したラミネート化ニトロセルロース膜に関する。

(従来の技術および発明が解決しようとする課題)

多孔質膜、とりわけニトロセルロース膜は、精製、分析法および免疫診断などの生化学的手順に用いられている。よく知られているウエスタンブロットティングは一つの例に過ぎない。ニトロセルロース膜はまた、ヨーロッパ特許出願公開EP-A-229,428号明細書(アボット・ラボラトリーズ)に開示されているようなイムノクロマトグラフィーアッセイにも用いられている。

ニトロセルロース膜に付随する問題の一つは、

記載してある。このことは、妥当な貯蔵期間にわたって安定性を保持しなくてはならないので、診断アッセイを製造するに当たって重大な問題である。

湿潤性を改善するために、膜に湿潤性を付与する濃度にてある種の界面活性剤を該膜に加えることもできるが、界面活性剤はまた該膜上に存在する生物学的に活性な試薬を崩壊させることが知られている。たとえば、膜がタンパク質(たとえば抗体)を結合する能力は、診断的応用に重要である。それゆえ、膜がタンパク質に結合する能力とともに膜の親水性の性質を保持したまま、界面活性剤を含ませた膜を提供することが、本発明の重要な側面である。

本発明の目的はまた、親水性の性質を保持しながらニトロセルロース膜に機械的強度を付与するラミネート法および物質を考案することにある。本発明の他の目的は、ニトロセルロース膜の親水性を高め、広範囲のラミネート接着剤に対する安定性を付与するために、さらに界面活性剤を用い

ることにある。

(課題を解決するための手段)

一つの観点において、本発明は、アニオン性界面活性剤を約0.05%～約8%(v/v)の最終濃度で含む湿潤性の多孔質膜を有機溶媒ベースの接着剤を用いて該膜の少なくとも1つの側面にて支持体にラミネートし、生物学的に活性な試薬と接触させてその試薬の活性を保持させていることを特徴とする、診断アッセイに有用な固相装置に関する。好ましくは、多孔質膜はニトロセルロースからなり、界面活性剤の最終濃度は約0.1%～約3.5%(v/v)である。本発明の装置は、別の態様において、ポリビニリデンジフルオライド膜からなり、界面活性剤の好ましい最終濃度は約2.0%～約5.0%(v/v)である。

好ましくは、界面活性剤は硫酸アルキルまたはスルホン酸アルキル(アルキル鎖の炭素数は1～約12、とりわけ1～約8)である。

他の観点において、本発明は、分析対象物の存在または量を決定するための診断アッセイに有用

の接着剤を用いて支持体にラミネートした湿潤性多孔質膜の特定部分に、該リガンドと結合し得るリガンドレセプターを固定化し、

(b)工程(a)の膜の該特定部分を試料と接触させてリガンド/リガンドレセプター複合体を該膜上に生成させ、ついで

(c)該複合体の存在または量を検出して分析対象物を測定する

ことを特徴とする方法に関する。

接触させる方法としては、膜を試料中に浸漬するか、または膜の一端を試料と接触させ、毛管作用により試料を該膜中を該特定部分まで移動させることが挙げられる。後者の場合は、膜の両側をラミネートする。

検出工程は、生成した複合体を、検出可能なシグナルを生成し得るトレーサーと接触させることにより行う。トレーサーは、基質を検出可能なシグナルに変換させる酵素と抗リガンド抗体との結合体であってよく、または直接検出可能なコロイド標識と抗リガンド抗体との結合体であってよい。

な、ラミネートした湿潤性固相支持体の製造方法であって、

(a)アニオン性界面活性剤を約0.05%～約8%(v/v)の最終濃度にて含ませた多孔質膜を、有機溶媒ベースの接着剤を用いて支持体にラミネートし、ついで

(b)該膜中でその活性が保持されるように、該多孔質膜の該特定部分に生物学的に活性な試薬を接触させる

ことを特徴とする方法に関する。

支持体は半剛体のポリエステルまたはポリオレフィンプラスチックであってよく、また膜の片側に試薬を加えた後に該膜を両側でラミネートしてもよい。好ましくは、該界面活性剤は水ビヒクルから膜中に含まれる。

最後に、本発明は、湿潤性多孔質膜固相を用いて試料中の特異的結合リガンドの存在または量を決定する方法であって、

(a)約0.05%～約8%(v/v)の最終濃度にてアニオン性界面活性剤を含ませ、有機溶媒ベース

検出可能なシグナルは、目に見える色、化学ルミネセンス、および蛍光から選ばれる。

以下、添付の図面を参考にしながら本発明をさらに詳しく説明する。

第1図は、本発明の態様の一例を示す。改良された多孔質膜(10)が、少なくとも一方の側で支持体(14)上にラミネートされている。この膜(10)は、接着剤層(12)により支持体(14)に保持されている。本発明の多孔質膜には界面活性剤が含まれており、この界面活性剤により該膜に湿潤性が付与されるが、該膜と接触している生物学的に活性な試薬の活性を損なうことはない。

「生物学的に活性な試薬」には、酵素、核酸、および天然の形態で活性を有する他のタンパク質などが含まれる。好ましい態様における試薬は一般にタンパク質であるので、本明細書において「タンパク質」なる語はしばしば生物学的に活性な試薬の代わりに用いられる。しかしながら、本発明はタンパク質に限られるものではない。同様に、タンパク質は該膜に固定化されてもよいし、また

は単に膜と接触しているだけであってもよい。該試薬が、膜と接触し、界面活性剤が膜中に存在しているときに、天然の活性を保持していることが重要である。

本発明の多孔質膜は、タンパク質を固相に接触させるかまたは固定化させて流体試料と接触させるような、数多くの生化学的方法において有用である。一つの系においては(第1図参照)、膜の一方の側においてのみラミネートし、反対側の表面上の特定部分(15)にタンパク質を適用し、流体を該反対側から接触させる。「ドットブロッキング」(ヨーロッパ特許出願公開E P - A - 0 6 3, 8 1 0号明細書参照)がこのタイプの方法の例である。

他の系においては(第2図参照)、膜を最終的に両側でラミネートし、薄層クロマトグラフィーのように流体を膜中を縦方向に流れるようにする。膜(10)を一方の側でラミネートし、タンパク質を膜上の特定部分(図示していない)上に固定化し、第二の支持体(16)および接着剤層(18)か

迅速な診断アッセイと矛盾しない時間内(すなわち、10分未満、好ましくは5分未満)で結果を視覚化させ得る長さ(すなわち、2~10cm)を横切るようなものである場合にも膜は「親水性」であるとされる。

加えて、膜がタンパク質を結合する能力が本発明にとって重要である。未処理膜は、おそらく疎水性のタンパク質残基を介して、おそらくは該タンパク質と膜との間のイオン相互作用または水素相互作用によりタンパク質を結合させる(ニトロセルロースは、その硝酸塩基により部分的に負の荷電を有していることが知られている)。膜がタンパク質を結合させる相対的な能力は、タンパク質として抗体を用い、既知の一定量の分析対象物からシグナルの相対強度を決定する数多くの免疫学的方法により決定することができる。

タンパク質の膜への接触は、数多くの方法により行うことができ、たとえば乾燥法、架橋法、共有結合付着法および吸着法などが挙げられるがこれらに限られるものではない。タンパク質はビペッ

らなる第二のラミネートを反対側に適用する。このタイプの方法の例は、ヨーロッパ特許出願公開299,428号明細書中に記載されている。

本明細書において頻繁に用いられる「親水性」および「湿潤性」なる語は、「疎水性」の反対語として互換的に用いている。「親水性」を測定するために数多くの方法を用いることができる。本発明の好ましい態様の膜は薄層クロマトグラフィーのストリップと類似しているため、親水性はここでは溶媒フロントが膜ストリップを横切る速度として測定される。ダーシーの法則(Darcy's law)で溶媒フロントが移動した距離を時間( $t$ )と関係付けることにより速度が得られる。一定距離( $L$ )に対しては、関連して測定を要するのは膜フロントが $L$ に達するのにかかる時間である。親水性の相対的な測定は、処理したラミネート膜の上記時間または上記時間に対する「毛管(wicking)」速度を未処理のラミネート膜の毛管速度と比較することにより得られる。本発明の目的のためには相対的な親水性が充分であるが、流速が、溶媒フロントが

トから適用することができ、または一層好ましくは、ラミネートする前に前記の特定部分上/中に吸出させることができる。タンパク質は、その活性が保持されている限り、固定化されてもよいし、または溶媒フロントとともに移動してもよい。

#### (1)膜物質:

「多孔質膜」とは、毛管作用により流体が流れることのできる孔を有する膜状物質を意味する。膜の例としては、ニトロセルロース、焼結ポリエチレン、ポリプロピレンまたはポリビニリデンジフルオライド(PVDF)などの焼結プラスチックが挙げられる。多孔質膜は、約0.4マイクロメートル( $\mu m$ )または「ミクロン」~約10  $\mu m$ の範囲の種々の孔径で利用することができる。免疫診断のためには、大きな孔径(すなわち5  $\mu m$ )が流体の流速が高く、より迅速なアッセイを行うことができるので現在のところ好ましい。

本発明のためには、好ましい多孔質膜はニトロセルロースである。ニトロセルロース膜は、ゲルマン・サイエンスズ(Gelman Sciences)、ア

ンアーバー、MI;ミリポア(Millipore)、ベッドフォード、MA;シュラヒャー・アンド・シュエル(Schleicher and Schuell; S & S)、キーン、NH;サルトリウス・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクター・ハフトウング(Sartorius GmbH)、ゲッチェンゲン、西ドイツ;およびミクロン・セパレーションズ(Micron Separations, Inc.; MSI)、ウエストボロー、MAを含む数多くのところから市販されている。これらニトロセルロースの市販源は、約 $0.45\mu\text{m}$ ~約 $5\mu\text{m}$ の孔径を有する膜を製造している。市販のニトロセルロース膜には、下記のように、登録商標を有する界面活性剤が含まれていてよい。

PVDF膜は、ミリポアから入手可能である。これらの膜もまた、約 $0.22\mu\text{m}$ ~約 $2.0\mu\text{m}$ の範囲の幾つかの孔径で入手することができるが、他の孔径も利用できるようになるかもしれない。PVDFは、一般にニトロセルロースに比べて疎水性が大きい。その結果、タンパク質を一層強固に結合させるが、一般に湿潤性は悪く、毛管速度も

しい方法ではない。加えて、感圧ラミナを用いれば製造工程を簡略化することができる。感圧ラミナは、圧力をかけると膜に付着される。

本発明において有用なラミナとしては、ポリエステル類(ミラールなど)、ポリオレフィン類および匹敵する引っ張り強度を有する同様のプラスチック類が挙げられる。すでに記載したように、支持体ラミナは、多孔質膜の機械的強度を増強し蒸発を抑止するために用いる。第3図に示すように、典型的なラミナは、接着性物質の層(12)でコーティングされた支持体層(14)からなり、該接着性物質の層(12)はさらにリリースライナー(20)で覆われている。一般に、リリースライナーは紙、ポリエステルまたは同様の物質であり、シリコンや、接着剤が該リリースライナーにしっかりと結合するのを防ぐ他の同様の物質のコーティングを有する。「移動(Transfer)接着剤」は、2つのリリースライナー間にはさまれた接着剤層として利用できる。これらは、支持体膜を分離して使用するのが好ましくないような特別の場合に用

いにくい。親水化した生成物、ジュラポア(Durapore)は、ミリポアから種々の孔径範囲で入手できる。

## (2)支持体ラミナ(Support Laminas):

本発明の目的に対して、「ラミネート」または「膜ラミネート」なる語は、支持体に結合した膜をいう。「ラミナ」なる語は、膜の結合している支持体層をいい、関連する接着剤層および保護リリースライナー(Protective release liner)を含む。

膜ラミネートの製造法の一つには、モノコート(Monokote)[トップ・フライト(Top Flight)、シカゴ、11より入手可]のような熱感ラミナを使用することが含まれる。この特定の生成物を用い、膜を支持体のそばに置き、表面に熱を加えて2つの層を結合させる。この方法の有利な点は、膜の親水性を保持するためにさらに界面活性剤を必要としないことである。これは、妥当な貯蔵時間にわたって安定のままである。しかしながら、熱を加えることにより、膜にすでに結合していたタンパク質が不活化されるので現在のところ好ま

いることができる。

支持体の厚さが $50\sim 200\text{mils}$ 、好ましくは $100\sim 150\text{mils}$ のポリエステル支持体ラミナが、容易に入手できるので現在のところ好ましい。たとえば、そのようなラミナは、フレキシコン(Flexcon)、スペンサー、MAおよびアドヒーズ・リサーチ(Adhesive Research, Inc.)、グレンロック、PAから入手できる。

支持体ラミナを製造するには、一般に、リリースライナーの一つの表面上に接着性化合物をコーティングし、オープン中で乾燥させる。ついで、この乾燥した接着剤を支持体層と接触させて支持体層を生成させる。

## (3)接着剤:

接着剤は、シールズ(Shields, J.)のAdhesive Handbook、第3版(改訂1985)中に記載されており、一般に溶媒中の粘着付与剤形と組み合わせた接着性化合物からなる。接着性化合物としては、ポリメチルメタクリレートなどのアクリル樹脂、ゴム物質およびシリコン樹脂などが挙げら

れる。他の接着性ポリマーおよび粘着付与剤は、当業者に知られている。溶媒は有機ベースであっても水性ベースであってもよい。たとえば、第1表に示したフレキシコン接着剤V23は有機溶媒ベースの(OSB)接着剤であり、フレキシコンV95およびV170、および3M#396もそうである。対照的に、アデヒシブリサーチ(AR)接着剤AS73(たとえば、製品No.7279)、カゼイン、ポリ酢酸ビニル(PVA)およびポリビニルピロリドン(PVP)は有用な水性溶媒ベースの(WBSA)接着剤である。

市販の接着剤の正確な組成についてはラミナ製造業者によって明らかにされないことがしばしばあるが、本発明は本明細書中に引用した容易に入手可能な接着剤を用いて行うことができ、これら接着剤は指定の製造業者からの数字で注文することができる。にもかかわらず、本発明の範囲は記載した特定の接着剤に限定されるものではない。

接着剤の例示を第1表に挙げてある。OSBフレキシコンラミネートは、ある種のニトロセルロース

スロットとはうまく機能した(すなわち、タンパク質の結合を示すシグナルを保持しながら、経時的に改良された安定性を示す)が他のものとはうまく機能しなかったことに注意することが重要である。特に、フレキシコンPM100CM/V23/71PMO(「71PMO」)、ロットNo.1NF3310-33A199011はS&SニトロセルローススロットNo.4403/8260および6419/8921とはうまく機能したが、S&SロットNo.4406/8221および4403/8221とはうまく機能しなかった。同様に、フレキシコンラミナPM150C/V23/ポリSC-9(「ポリSC-9」)、ロットNo.7ZD3546-33A209841はS&SニトロセルローススロットNo.6419/8921とはうまく機能したが、残りの3つのロットのいずれともうまく試験されなかった。対照的に、WBS接着剤AR7279/AS73は、一般に、界面活性剤を加えなくとも、ほとんどのブランドのニトロセルロースと良好な安定性を示した。

対し安定であった。

(以下余白)

この結果は、ニトロセルロース膜中に含まれる専用の界面活性剤の性質および量に及ぼす接着剤溶媒ベースの影響によるものと思われる。本件出願人はいかなる特定の理論または機構に限定されることを意図するものではないが、OSB接着剤がある種の疎水性の有機溶媒を膜中に放出し、親水性の低下をきたしたものと思われる。または、この疎水性は、支持体層からの可塑剤が接着剤層を運って膜中に移動した結果、引き起こされたのかもしれない。

WBS接着剤から放出される水は膜に対しこのような有害な作用を及ぼさないが、WBS接着剤は水性試料と接触したときに溶解させ、その結果、脱ラミネートおよびラミネート装置の破壊を引き起こすと思われた。しかしながら、驚くべきことに、WBS接着剤は膜ラミネートの破壊を引き起こさずに首尾よく用いることができることがわかった。

感熱モノコート製品中に含まれる接着剤もまた、試験したほとんどのニトロセルロースブランドに

第1表		* 添加した界面活性剤		* 安定性	
膜 (入手順)		専用の界面活性剤		ラミネート/接着剤	
NC		不明	なし	3つすべてを	良好
(MS1)		通常	なし	試験	良好
NC		不明	なし	AR 7219/AS72	普通
(S&S #4402/8280)		通常	なし	フレキシコン 71PHO	不良
NC		不明	なし	フレキシコン ポリ SC9	良好
(S&S #8419/8331)		2倍	なし	AR 7219/AS72	良好
NC		不明	なし	フレキシコン 71PHO	良好
(S&S #4406/8221)		通常	なし	フレキシコン ポリ SC9	良好
NC		不明	なし	AR 7219/AS72	普通
(S&S #4402/8221)		通常	なし	フレキシコン 71PHO	不良
NC		不明	なし	フレキシコン ポリ SC9	良好
(サルトリクス)		通常	なし	3つすべてを	不良
NC		不明	0.1% SDS	試験	良好
(サルトリクス)		通常	0.1% シアスタット	3つすべてを試験	良好
NC		不明	0.1% SDS	3つすべてを試験	良好
(ミリゾア)		通常	なし	3つすべてを試験	良好
NC		不明	なし	AR 7219/AS72	良好
(ザルマン)		通常	なし	フレキシコン ポリ SC9	不良
PVDF		おそらく	0.1% シアスタット	3つすべてを試験	良好
(ミリゾア)		なし	(本から)	3つすべてを試験	良好

(注)本: 添加した界面活性剤は、処理液の濃度(%)で示す。これは、ニトロセルロースについては係数2.5を、PVDFについては係数0.97を掛けることにより濃度換算(%)に換換することができる。試験係数は、膜のポイド容量、その倍率、および所定量の膜によって得られる1単位膜の容量中に存在する界面活性剤の計算値に基づいて決定する。または、試験係数は経験的に決定することができる。

\*\*安定性の評価は、膜水性の性質の保持のみに基づいて行つた。すべての「良好な」試験が必ずしも良好な結合シグナルを与えるとは限らない。

それゆえ、WSB接着剤は一般に、市販の「在庫」ニトロセルロース膜に対して安定なラミネートを生成する。しかし、使用可能なニトロセルロースおよび支持体ラミナの複数の入手難を確保するため、もっと多くの製品が安定に湿潤性ならびにタンパク質結合能を保持するように、市販のニトロセルロースを処理する方法を見出すことが望まれる。それゆえ、ラミネート後にニトロセルロースがOSB接着剤に対して疎水性になるのを抑止し得るような界面活性剤を開発することを始めた。

#### (4)界面活性剤:

若干驚くべきことではあるが、すべての界面活性剤が必ずしもタンパク質を結合する能力に影響を与えることなしに湿潤性のニトロセルロースを生成できるものではないことがわかった。一般に、タンパク質活性を許容し得る濃度で加えた界面活性剤は、膜の湿潤性に対して経時的に全くまたは殆ど改善を示さなかった。第4図からわかるように、典型的なラミネートは、経時的な親水性の低

下として定義される不安定性を示した。ラミネートは妥当な貯蔵寿命を有していなければならないので、膜の湿潤性を保持することは必須である。試験した多くの界面活性剤は、安定性を改善しなかったか、またはタンパク質への結合能力が低下したか、またはその両方がみられた。安定性が不良であること、またはタンパク質活性が不良であることは、いずれもラミネートを使用に適さないものにした。

加えて、驚くべきことに、界面活性剤を膜に適用するビヒクルもまた膜の安定性を改善する能力に影響を与えることがわかった。すべての界面活性剤がすべてのビヒクルに可溶なわけではないが、一般的に、水ビヒクルから適用した界面活性剤の方がイソプロパノールビヒクルから適用した界面活性剤よりもうまくいった。界面活性剤の非限定的例示を第II表に挙げる。これらは、非イオン性、カチオン性、アニオン性、双性イオン性または帯電防止剤として 微付けられる。第II表にはまた、界面活性剤を適用するビヒクル、および膜がタン





タイプの凡例: N=非イオン性, A=アニオン性, C=カチオン性, Z=双

イオン性, およびS=帯電防止

入手品の凡例: I=DA SP パーフォーマンス・ケミカルズ(Performance Chemicals), パーシッパニー, NJ; 2=ICI アメリカ, ウィルミントン, DE; 3=デュ・ポン, ウィルミントン, DE; 4=シグマ・ケミカルズ, セントルイス, MO; 5=マッケントリー・グループ(McIntyre Group, Ltd.), シカゴ, IL; 6=エア・プロダクツ(Air Products), アレンタウン, PA; 7=バイオ・ラド, リッチモンド, CA; 8=アミリカン・シアナミッド(American Cyanamid), ポリマ・プロダクト部門, ウェイン, NJ; 9=アルドリッチ・ケミカル・カンパニー, ミルウォーキー, WI

セルロースとPVDF膜の両方に対してうまく機能した。このクラスの帯電防止剤は以下、「シアスタット様」と称するが、トリメチルアンモニウムカチオン頭部に結合した非極性の鎖R<sub>1</sub>と、低級アルキル基R<sub>2</sub>に結合した極性のアニオンとが対になったものである。R<sub>1</sub>としては、炭素数が8〜約20の直鎖または分枝鎖が挙げられる。R<sub>2</sub>はまた、シアスタットLSのアミド残基のような、他の置換基を有していてもよい。R<sub>2</sub>は、炭素数1〜約5の直鎖または分枝鎖アルキル側鎖を表す。極性アニオンとしては、アニオン界面活性剤にみられるいかなるアニオンであってもよいが(上記)、硫酸塩が現在のところ好ましい。

何故、アニオン性アルキル硫酸塩と対になったカチオン性界面活性剤のように思われるこれらシアスタット様剤では良い結果が出たのに、同様のカチオン性界面活性剤のプロマイド塩では失敗したのかは完全にはわかっていない。しかしながら、アルキル硫酸塩の有しているアニオン性界面活性剤としての性質が重要な役割を果たしたものと思

第II表からわかるように、2つのクラスの界面活性剤が膜の安定性を改善するのに成功したように思われる。第一のクラスは、水ビヒクルから適用したアニオン性の界面活性剤である。アニオン界面活性剤は、非極性の尾部に結合した負に荷電した極性頭部からなっている。極性の頭部は、一般に、硫酸塩、スルホン酸、リン酸塩、またはカルボン酸塩基からなる。非極性の尾部は、概して1〜約16個の炭素原子を有する炭化水素鎖からなる。この尾部は、分枝鎖であってもよいし直鎖であってもよく、また他の非極性の置換基を有していてもよい。尾部の長さは1〜約12炭素原子であるのが好ましく、1〜約8炭素原子であるのが最も好ましい。アニオン界面活性剤は、一般にナトリウム塩またはカリウム塩として多くの入手源から市販されている。好ましいアニオン界面活性剤は、炭素数が1〜8の硫酸アルキルまたはスルホン酸アルキルである。

アニオン界面活性剤に加えて、帯電防止剤の一つであるシアスタット(Crastat)LSが、ニトロ

われる。このことは、比較的短い非極性尾部を有するアニオン性界面活性剤もまた非常に良い結果が得られるであろうことを示唆している。カチオン性界面活性剤のプロマイド塩が失敗したのは、イソプロパノールビヒクルのせいであることも考えられる。

使用する界面活性剤の濃度は、特定の界面活性剤に依存して0.01%〜約10%(w/v)であってよい。一般に、ニトロセルロースに対しては、アニオン性界面活性剤は0.1%〜約8%(w/v)の濃度で使用するのが好ましく、約0.25%〜約3.5%(w/v)の濃度で使用するのが最も好ましい。PVDFはまず第一に疎水性がより大きいので、わずかに高い処理濃度(w/v)が好ましいが、変換係数が減少していることにより部分的に相殺される。最終的に好ましい濃度は約1.0%〜約10%(w/v)であり、約2%〜約5%(w/v)であるのが最も好ましい。

シアスタット 剤は、膜に依存して約0.01%〜約10%(w/v)の範囲の濃度で使用するの

好ましい。ニトロセルロース膜に対しては、これら剤の好ましい濃度は約0.1%～約2.0%(v/v)であり、最も好ましい濃度は約0.2%～約0.5%(v/v)である。P.V.D.F.膜とともに用いる場合は、好ましい濃度は約2%～約10%(v/v)の範囲であり、最も好ましい濃度は約5%～約9%(v/v)である。最終濃度(v/v)は、第1表の注に示したように、一定の変換係数により処理液濃度(v/v)から得ることができる。

試験した最終的な膜には、特定の膜製造業者により用いられる専用の界面活性剤がいかなるものであっても、発明者らの手により加えられた界面活性剤で処理されたことにより失われるよりも少ない量の界面活性剤が含まれていた。それゆえ、アニオン性界面活性剤について%(v/v)で示した本願における界面活性剤の濃度には、製造業者によって膜に加えられていたかもしれないアニオン性界面活性剤に対し約0.01～約3%の許容量が含まれている。これらは、5μmの市販膜について行った抽出研究に基づいて評価され、下記の

界面活性剤はラミネート後(一方の側の)に膜に含ませることもできるが、ラミネート前に界面活性剤を含ませるのが好ましい。

驚くべきことに、前の反対側も同様の手順に従ってラミネートすることができる。この場合、タンパク質の添加は第二のラミネートの前に必ずしておかなくてはならない。タンパク質は膜の表面に加えるので、ラミネートに伴うタンパク質の安定性の問題は、同じ膜のこの第二のラミネート操作において最大になることが考えられる。しかしながら、本発明の方法および組成物を用いることにより、イムノクロマトグラフィーストリップの両面をラミネートできることがわかった。このことから、汚染物質を斥け、試料流体の蒸発を抑制するという利点がさらに得られる。両側をラミネートする場合は、隣接する成員またはゾーンと接触させるために、一般に片方の小さなセクション(約1/4インチ)をラミネートしないまま残しておく。

本発明の装置を使用する方法もまた、上記で説

ように約0.01%～約11%(v/v)の範囲であった。

MSI	9.3%～11.3%
S & S	0.75%～2.2%
サルトリウス	0.01%～1.15%

シアスタットタイプの剤が膜製造業者により加えられていたかどうかは疑わしいので、この剤について掲げた%については同様の許容は行わない。

#### (5)方法:

本発明による膜の製造方法については、上記説明および関連実施例から明白である。一般に、界面活性剤処理したニトロセルロースの全シートを一度にラミネートし、ついで所望の幅のストリップにカッティングする。シートを平らな表面上に置き、リリースライナーを所望のラミナから取り除く。このラミナを、しわができないように注意しながら上記膜上にプレスする。約7.0ポンド圧を加圧可能なローラーを用い、ラミナを膜に接着させる。ついで、所望の幅のストリップを該シートからカッティングする。

明した。詳しい情報は、当業者がヨーロッパ特許出願公開EP-A-299,428号明細書を参照することにより得られる。本発明の装置は、抗原性の分析対象物を膜上のタンパク質抗体により捕捉するクロマトグラフィームノアッセイにおいて最も効果的に使用できる。捕捉されたリガンド/分析対象物は、ついで抗リガンド抗体とシグナル生成物からなるトレーサー結合体により検出される。シグナルは、同位体標識やコロイド標識などのように直接生成させることもできるし、または酵素標識のように間接的に生成させることもできる。これらの技術は、競合アッセイプロトコルがそうであるように、すべて当該技術分野でよく知られている。

つぎに、実施例に基づいて本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらに限られるものではない。

#### 実施例1

フレキシコンから入手した溶媒ベースのアクリル酸接 テープ(PM100CM/V23/71

PMO)を用い、ニトロセルロース膜(シュライヒャー&シュエルから入手した孔径5ミクロンのもの)を両側でラミネートし、22℃、37℃および45℃で貯蔵した。種々の時間間隔で(0日、7日、14日、21日、28日、56日、84日、112日など)、ラミネートした膜1~3mmのストリップを試験溶液(0.1MトリスpH7.4、0.9% NaCl、フェノールレッド)中に浸漬し、溶液フロントが5.4cmの距離を移動するのに要する時間を測定することにより膜の親水性を試験した。親水性の大きな膜は、液体が5.4cm移動するのに要する時間が短い。第4図の結果は、すべてのラミネート膜が経時的に親水性が低下したこと、および貯蔵温度を高めると親水性の喪失の起こる速度が増大することを示している。

#### 実施例2

フレキシコンから入手した溶媒ベースのアクリル酸接着(V23)テープであるPM100CM/V23/71PMOおよびPM150C/V23/ポリSC9、およびアドヒーズ・リサーチか

168日後でも親水性が低下しなかった。PM100CM/V23/71PMOでラミネートした膜は、約140日後に約2の係数で親水性が低下した。PM150C/V23/ポリSC9でラミネートした膜は親水性の低下が最も著しく、わずか35日後に2.7の係数で低下した。このデータは、溶媒ベースの接着剤が、ラミネート膜に疎水性を引き起こし得ることを示している。この系におけるリリースライナーは、使用時に接着剤層に残留する溶媒の量に影響を与えるという役割を果たしている。非透過性のポリエステルリリースライナーであるポリSC9の方が透過性の紙ライナーである71PMOよりも、接着剤層中に保持される溶媒の量が多いことが予想される。また、所望の親水性の性質を損なうことなく、水ベースの接着剤を用いて膜をラミネートすることができる。

#### 実施例3

フレキシコンPM150C/V23/ポリSC9溶媒ベースアクリル酸接着テープを用い、実施

ら入手した水ベースのアクリル酸接着(AS73)テープであるAR7279/AS73を用い、ニトロセルロース膜(実施例1と同)を両側でラミネートした。2種のフレキシコンテープの主要な違いは、リリースライナー71PMOが紙リリースライナーであるのに対してポリSC9はポリエステルリリースライナーであることである。AR7279/AS73はポリエステルリリースライナーを有する。これら膜を37℃でインキュベートし、実施例1に記載のようにして試験した。その結果は、下記の通りである。

接着剤	37℃にて特定の日数貯蔵した後で5.4cmストリップを移動する毛管時間(分)											
	0	7	14	21	28	35	56	84	112	140日		
*1	4.8	7.7	6.6	6.8	8.6	n/a	7.2	8.1	9.1	9.3		
*2	5.9	9.3	12.6	12.6	9.7	16.2						
*3	6.1	5.3	5.0	6.2	5.9	n/a	5.6	5.7	6.0	6.3		

(注)\*1:フレキシコン71PMO  
\*2:フレキシコンポリSC9  
\*3:AR7279/AS73

AR7279/AS73でラミネートした膜は、

例1に記載のようにしてニトロセルロース膜をラミネートし試験した。得られた結果は、この物質で膜をラミネートした後45℃でインキュベートすると親水性の損なわれ方が最も大きいことを示していた。

接着剤	37℃にて特定の日数貯蔵した後で5.4cmストリップを移動する毛管時間(分)											
	0	7	14	21	28	56	84	112	140	168日		
*1	4.1	5.9	6.5	6.6	7.2	8.2	8.9	9.2	11.5	11.9		
*2	3.6	10.0	10.4	12.6	12.3							

(注)\*1:フレキシコン71PMO  
\*2:フレキシコンポリSC9

#### 実施例4

ニトロセルロース膜を単一の界面活性剤(下記参照)の溶液中に浸漬し、該膜を該溶液で完全に湿潤させることにより、該膜に該単一の界面活性剤を含浸させた。この膜を5~10秒後に溶液から取り、紙用クリップで吊し、室温条件にて2~20時間乾燥させた。得られた膜を下記のようにして試験した。抗HCG抗体の溶液(1.2mg/ml)を細い毛細管[マイクロMLチュービング(Micro

ML tubing)、エルムハースト(Elmhurst)、NY)を通して0.05 ml/分の流速にてポンプで流し、該チュービングを膜表面を横切って0.5インチ/秒の速度で移動させることにより、該溶液を該膜の狭いゾーン中に適用した。この膜の狭いゾーン中に固定化された抗体は、捕捉部位を形成する。この膜をストリップにカッティングし、HCGに結合するセレン結合体を用いてイムノクロマトグラフィーを行った(ヨーロッパ特許出願公開EP-A-229,428号明細書参照)。抗体が膜へ結合することに及ぼす各界面活性剤の影響は、50 aIUのHCG尿素を用いてイムノクロマトグラフィーを行ったときの該捕捉部位に結合したセレン結合体の相対量により評価した。この試験におけるシグナルの減少は、界面活性剤のブロッキング作用により引き起こされたニトロセルロース抗体結合能の喪失と解釈した。

#### 工程A

下記界面活性剤(特に断らない限り水から)のそれぞれを1%(v/v)の濃度で用い、上記のように

た(このことは、上記で説明したように、膜の親水性が低下したことを意味するものとされる)。

#### 工程C

上記工程Bに記載のようにしてニトロセルロース膜を処理し試験したが、毛管速度を増大させるために界面活性剤溶液に0.5%グリセロールを加えた。得られた膜は、イムノクロマトグラフィーの間にシグナルの展開で減少がみられなかった(しかし、親水性に対する影響については実施例5を参照のこと)。

#### 工程D

下記界面活性剤(イソプロパノール溶液から)のそれぞれを1%(v/v)の濃度で用い、上記のようにしてニトロセルロース膜を処理し、試験した:ドデシルトリメチルアンモニウムブロマイド、セチルトリメチルエチルアンモニウムブロマイド、ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロマイド、およびスルホニル(Sulfonyl)104PA。得られた膜は、イムノクロマトグラフィーの間にシグナルの展開で減少がみられなかった(しかし、親

してニトロセルロース膜を処理し、試験した:トリトンX100、トリトンX405、プルロニック(Pluronic)F68、プルロニックL82F、プルロニックL101、ツイーン80、ツイーン20、Brij35、マッカネート(Mackanate)DC30、CHAPS、およびジオクチルスルホサクシネート(イソプロパノールから)。各場合において、界面活性剤処理した膜では、イムノクロマトグラフィーの間にシグナルの展開に減少がみられた。

#### 工程B

下記界面活性剤(イソプロパノールから)のそれぞれを0.1%(v/v)の濃度で用い、上記のようにしてニトロセルロース膜を処理し、試験した:マッカネートDC30、セチルアルコール、ゾニル(Zonyl)FSO、ゾニルFSN、ゾニルFSP、ゾニルFSJ、およびプルロニックL101。これらの界面活性剤で処理した膜ではイムノクロマトグラフィーの間にシグナルの展開に減少はみられなかったが、膜の毛管速度は処理の結果減少し

水性に対する影響については実施例5を参照のこと)。

#### 工程E

下記界面活性剤(水溶液中)のそれぞれを用い、上記のようにしてニトロセルロース膜を処理し、試験した:1%ペンタンスルホン酸、1%ヘプタンスルホン酸、1%オクタンスルホン酸、1%デカンスルホン酸、0.1%ドデカンスルホン酸、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム、および0.2%シアスタットLS。得られた膜は、イムノクロマトグラフィーの間にシグナルの展開で減少がみられなかった。

#### 実施例5

実施例4工程Cおよび工程Dに記載のようにして製造した膜を、実施例3に記載のようにして試験した。フレキシコンPM150C/V23/ポリSC9でラミネートした結果、すべての膜は親水性の性質が低下し、14日後に流速が使用不能な程遅くなりまたは変化した。これらの研究の目的においては、5.4cmのストリップに対して流

動時間が10分を超えるか、または流速の変化が20%を超えるときは使用不能であると考えた。ラミネートが使用不能であると決定した時点でこれらの研究を終えた。

#### 実施例 6

実施例4工程Eに記載のようにして製造した膜を、実施例3に記載のようにして試験した。フレキシコンPM150C/V23/ポリSC9でラミネートし45℃にて加速熟成(accelerated aging)した後、すべての膜は親水性の性質を保持した。

接着剤	45℃にて特定の日数貯蔵した後で5.4 cmストリップを移動する毛管時間(分)				
	0	7	14	21	28日
4-ブタンジオール酸	4.1	5.5	5.4	5.6	5.6
4-ブタンジオール酸	4.9	5.3	5.2	5.2	5.3
4-ブタンジオール酸	5.1	5.6	5.4	5.6	5.7
7-ブタンジオール酸	5.7	6.4	6.0	6.2	6.2
ト-ブタンジオール酸	6.2	6.4	6.0	6.3	6.3
ト-ブタン硫酸	6.3	7.1	7.0	6.4	6.3
97537	5.5	6.2	6.2		

このことは、これらの界面活性剤がニトロセル

1.4 cm、分)

#### 実施例 8

有機溶媒ゴムベース接着剤(3M-#396)を用いてニトロセルロース膜(S&S、5ミクロン)をラミネートし、37℃にて貯蔵し、毛管速度について試験した。

接着剤	特定の日数貯蔵した後で5.4 cmのストリップを移動する毛管時間(分)				
	0	7	14	21	28日
3M-396	4.7	22.2	26.2	33.2	37.7

#### 実施例 9

有機溶媒アクリル酸ベース接着剤(フレキシコンV95)を用いてニトロセルロース膜をラミネートし、37℃にて貯蔵し、毛管速度について試験した。

接着剤	特定の日数貯蔵した後で5.4 cmのストリップを移動する毛管時間(分)				
	0	7	14	21日	
フレキシコンV-95	5.0	8.7	9.3	10.2	

#### 実施例 10

有機溶媒アクリル酸ベース接着剤(フレキシコンV170)を用いてニトロセルロース膜をラミネートし、37℃にて貯蔵し、毛管速度について試験した。

特定の日数貯蔵した後で5.4 cmの

### 特開平3-120469 (13)

ロースの抗体結合を妨害せず、また溶媒ベースのアクリル酸接着剤により引き起こされる親水性の低下に対する抵抗性を付与することを意味している。

#### 実施例 7

イソプロパノールまたは水中の1%シアスタットLSを用い、実施例4工程Eに記載のようにしてニトロセルロース膜を処理および試験し、ついで実施例3に記載のようにして試験した。イソプロパノール溶液から処理した膜ではPM150C/V23/ポリSC9でラミネートし熟成した後には親水性の性質が失われたが、水溶液から処理した膜では親水性の性質は失われなかった。

接着剤	特定の日数貯蔵した後で特定の距離を移動する毛管時間							
	0	7	14	21	28	56	84	112日
*1	5.1	6.2	5.7	6.6	6.3	6.2	6.2	6.1
*2	0.4	5.4	4.5					

(5.4 cmに外挿すると使用不能)

(注)\*1:水溶液からのシアスタット(5.4 cm、分)

\*2:イソプロパノールからのシアスタット(

接着剤	ストリップを移動する毛管時間(分)								
	0	7	14	21	28	56	84	112	140日
フレキシコンV-170	4.2	6.2	7.1	9.1	7.3	8.9	10.0	9.7	11.9

#### 実施例 11

熱活性化接着剤(モノコート)を用いてニトロセルロース膜をラミネートし、37℃にて貯蔵し、毛管速度について試験した。

接着剤	特定の日数貯蔵した後で5.4 cmのストリップを移動する毛管時間(分)			
	0	7	14	210日
モノコート	4.1	4.2	4.4	4.5

#### 実施例 12

ホットメルト接着剤を用い、ポリエステルに結合したポリエチレン膜からなるニトロセルロースをラミネートした。ホットメルト接着剤は、溶融温度が65~90℃の100%固形分からなる熱可塑性の接着剤である。このラミネート手順では、疎水性の有機溶媒が結合層から膜中へ移動する機会がないので、膜の流速に影響を与えることはない。

#### 実施例 13

水ベースのカゼイン接着剤を用い、ポリエステル支持体に結合した粘性カゼイン溶液層からなるニトロセルロースをラミネートした。そのような物質は、水中の20%カゼイン溶液の薄層をポリエステルに適用し、最終濃度が70~90%になるまで薄層から水を蒸発させることにより製造する。この接着性物質を用いてラミネートした場合は、接着剤から膜へ水が移動することにより膜の水和の度合が増大するので、膜の親水性の性質が低下することはない。

#### 実施例14

水ベースのポリビニルピロリドン(PVP)接着剤を用い、ポリエステル支持体に結合した粘性PVP溶液からなるニトロセルロースをラミネートした。そのような物質は、20~30%(w/v)PVP(分子量3,000~5,000)の薄層をポリエステルに適用し、最終濃度が70~90%(w/v)になるまで膜層から水を蒸発させることにより製造する。この物質を用いてラミネートした場合も、実施例13に記載したのと同じ理由で、膜の

させた。このシートからカッティングしたストリップを、37℃で貯蔵したポリSC-9ラミネートを用い上記実施例3および4と同様に試験した。未処理コントロールおよび0.1%および0.2%処理試料からのシグナルは良好であった。0.3%および0.4%処理試料からのシグナルは普通であった。0.5%処理試料からのシグナルは不良であった。親水性の安定性は以下の通りであった。

濃度	37℃にて特定の日数貯蔵した後で5.4 mmストリップを移動する毛管時間(分)			
	0	5	7	14日
0.1%	6.8	12.7	12.0	12.2
0.2%	5.5	6.3	6.3	6.2
0.3%	4.3	5.3	5.3	5.2
0.4%	4.8	4.7	4.7	4.4
0.5%	4.8	4.6	4.8	4.6

#### 実施例17

ポリビニルピロリドン(PVP)膜(2.0ミクロン)をミリポアから入手した。この物質は、ミリポアの親水性デュラポア(Durapore)物

質の親水性の性質が低下することはない。

#### 実施例15

ポリ酢酸ビニル(PVA)粒子の水性乳液から製造した接着剤を用い、ニトロセルロースをラミネートした。PVA粒子(直径1~50ミクロン)の70%固形分水溶液を0.5%ドデシル硫酸ナトリウム安定化界面活性剤とともに薄層としてポリエステル支持体に適用し、最終濃度が90~99%固形分になるまで水を蒸発させる。この物質を用いてラミネートした場合も、実施例13に記載したのと同じ理由で、膜の親水性の性質が低下することはない。

#### 実施例16

幅7.3インチのニトロセルロース織物を、下記濃度のシアスタットLSの幾つかの溶液の一つの浴中を0.5フィート/分にて引っ張って移動させた:0.1、0.2、0.3、0.4および0.5%(w/v)。浸漬路の長さは約3~4インチであり、滞留時間は30~40秒であった。ついで、この織物を80℃の乾燥トンネル中で約10分間乾燥

質の疎水性前駆体である。入手したままの膜は水溶液で湿潤することができなかった。抗体試薬を都合よく膜に適用することができない。親水性デュラポアのタンパク質結合は非常に低かった。このため、抗体試薬を吸着により固定化するには有用でない。

#### 実施例18

疎水性PVDF膜(2.0ミクロン)に1%(w/v)ブルロニックL101溶液を含浸させ、乾燥させた。得られた膜は抗HCG抗体の水溶液で湿潤させることができたが、抗HCGセレン結合体を500μl U分析対象物濃度で用いたイムノクロマトグラフィーを10分間行ってもシグナルの展開はみられなかった。おそらく、界面活性剤により湿潤が可能となったが、タンパク質の結合がブロックされたものと思われる。

#### 実施例19

水性PVDF膜(2.0ミクロン)に6.7%(w/v)シアスタットLS溶液を含浸させ、乾燥させた。得られた膜に抗HCG抗体(3.3 μg/μl、1

μ<sub>2</sub>)を適用し、抗HCGセレン結合体および500mIU HCG尿試料を用いてイムノクロマトグラフィーを行った。その結果、ニトロセルロース膜を用いて観察した場合と同等のシグナルの展開が示された。

#### 実施例20

PVDF膜をイソプロパノール中に浸漬させ、該膜を完全に湿潤させる。洗浄水を数回交換しながら上記湿潤膜を水浴中に浸漬させることにより、イソプロパノールを洗い出す。ついで、該膜のポイド構造中に拡散するのに充分な時間、該膜をドデシル硫酸ナトリウム(SDS)界面活性剤の5%(v/v)水溶液中に浸漬することにより、該膜にSDS界面活性剤を含浸させる。得られた5%SDS水溶液含浸膜を浴から取り、乾燥させる。タンパク質のPVDFへの結合がニトロセルロースの場合と同様であると仮定すると、この膜は容易に湿潤することができ、抗体の水溶液を容易に固定化することができるであろう。これが、水に可溶であるがイソプロパノールのような有機溶媒には

不溶である界面活性剤を疎水性PVDF膜中に導入する一般的手段である。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は、片面でラミネートする本発明の多孔質膜の模式図である。

第2図は、両面でラミネートする本発明の多孔質膜の模式図である。

第3図は、多孔質膜に適用する前のラミナ層を示す模式図である。

第4図は、ラミネート前の熟成後の親水性の減少を示すグラフである。

(主要符号の説明)

10:多孔質膜、12、18:接着剤層、14:支持体、16:第二の支持体

特許出願人 アボット・ラボラトリーズ

代理人 弁理士 青山 蘇ほか1名

